P. 2339-2342.
6. Nielsen, R. Serological characterization of 8 Haemophilus pleuropneumoniae strains and proposal of new serotype 8 / R. Nielsen, P.J. O/ Connor // Acta. Vet. Scand. 1984. Vol.25. P. 96-106.
7. Serological characterization of Actinobacillus pleuropneumoniae biotype 2 strains isolated from pigs in two Danish herds / R. Nielsen, L.O. Andersen, T. Plambeck [et al.] // Vet. Microbiol. 1997. Vol. 54. P. 35-46.
8. Structural characterization of the antigenic capsular polysaccharides and lipopolysaccharides involved in the serological classification of Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae strains / M.B. Perry, E. Altman, J.R. Brisson [et al.] // Serodiag. Immunother. Infect. Dis. 1990. Vol. 4. P. 299-308.

УДК 619:578.27:616-036.22:616-078

**А.С. Оганесян, О.П. Бъядовская, С.А. Дудников, Л.Б. Прохватилова**

# СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ К ЦИРКОВИРУСУ 2 ТИПА И ПАРВОВИРУСУ СВИНЕЙ В ЦЕНТРАЛЬНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

## Введение

Цирковирус свиней второго типа (ЦВС-2) является этиологическим агентом синдрома послеотъёмного мультисистемного истощения свиней (СПМИ) [1, 6, 7, 16, 17, 20]. Кроме СПМИ сообщается об участии ЦВС-2 в этиологии таких синдромов свиней, как дерматита и синдрома нефропатии свиней [1, 9, 17], респираторного симптомокомплекса свиней [5, 13, 17] и энтеритов, ассоциированных с ЦВС-2 [11, 17]. Кроме того, ЦВС-2 обнаруживается у взрослых свиней при репродуктивной патологии [17].

Вирус активно размножается в клетках иммунной системы свиней, вызывая их гибель, в связи с чем развивается иммунодефицитное состояние организма, и животное становится восприимчивым к другим слабовирулентным возбудителям. СПМИ распространён среди поросят-отъёмышей 6–12-недельного возраста и характеризуется сочетанием клинических признаков с прогрессирующим снижением массы тела больного животного, желтухой и смертностью на уровне 10-40%. Основные проявления СПМИ, такие, как генерализованный лимфаденит, гепатит, нефрит и пневмония, протекают у поросят в острой форме. При этом у одной части животных поражённой группы могут наблюдаться все клинические признаки, у другой – только некоторые из них, а у некоторых клинические проявления синдрома вовсе отсутствуют [1, 10, 15, 16]. Клинические признаки заболевания значительно варьируют внутри эндемических зон. Большинство животных, серопозитивных к ЦВС-2, может не иметь клинического проявления СПМИ, и в некоторых странах, где основное поголовье позитивно по ЦВС-2, случаи СПМИ никогда не были зафиксированы [1, 12, 15].

Сообщается о воспроизведении СПМИ в опытных условиях [14, 16], а также о патогенах, которые могут усилить влияние ЦВС-2 на поросят в полевых условиях [9, 14, 16, 17, 18, 20]. При этом показано усиление клинических признаков СПМИ при одновременном заражении животных ЦВС-2 и парвовирусом свиней (ПВС) [14, 20]. Смешанная инфекция ПВС и ЦВС-2 была обнаружена в значительном числе полевых случаев СПМИ [1, 10, 18].

Таким образом, актуальным представляется вопрос о распространении ЦВС-2 в популяции свиней Центрального федерального округа, а также об одновременной циркуляции ЦВС-2 и ПВС как факторов, создающих предпосылки для клинического проявления СПМИ в стадах.

## Материалы и методы

Некоторые группы поголовья были рассмотрены нами, как имеющие более высокую вероятность инфицирования, т.е. как группы риска [2, 4]. При инфекции ЦВС-2 в группу риска входят поросята старше 6 недель [1, 6, 7], поэтому для обследования нами была выбрана группа доращивания, в которую входили поросята от 2,5- до 4,5-месячного возраста. Обязательным условием отбора проб было исключение из тестирования поросят, полученных от свиноматок, вакцинированных против ПВС [3].

Объём выборки определяли исходя из 95% уровня вероятности и минимального уровня превалентности болезни в стаде (10%). При этом для бесконечно большой популяции было получено значение в

Таблица 1

**Положительные и отрицательные прогностические значения для применённых ИФА тестов**

| Показатель: | ЦВС-2 (Serelisa CV2 (Ab)) | ПВС (Ingezim PPV (Ab)) |
|---|---|---|
| Se | > 0,97 | 0,997 |
| Sp | > 0,97 | > 0,99 |
| LR+ | 32 | 99,7 |
| LR- | 0,031 | 0,005 |
| Шансы действительного заражения | 1:32 | > 1:99 |
| Шансы действительного здоровья | 1:32 | 1:333 |

30 проб из каждого хозяйства [2].

Обследование проводили в 6 областях Центрального федерального округа ($n_1$=6). Для обеспечения минимальной территориальной репрезентативности определили свиноводческие хозяйства в географически удалённых друг от друга точках для каждой обследуемой области, где и проводили пробоотбор. Пробы сыворотки крови были взяты одномоментно у свиней в группах доращивания свиноводческих хозяйств Московской (n=2), Костромской (n=2), Владимирской (n=4), Белгородской (n=8), Воронежской (n=6) и Смоленской (n=6) областей. Всего было исследовано 832 образца сыворотки крови из 28 хозяйств ($n_2$).

Для обследования на наличие антител к ЦВС-2 была выбрана тест-система на основе иммуноферментного анализа (ИФА) Serelisa CV2 (Ab), которая имеет уровень чувствительности (Se) > 0,97 и уровень специфичности (Sp) > 0,97, а для проверки образцов на наличие антител к ПВС использовали тест-систему на основе ИФА Ingezim PPV (Ingenasa) с уровнем чувствительности 0,997 и уровнем специфичности > 0,99. Эти тест-системы обладают высокой чувствительностью и специфичностью, позволяют провести исследование большого количества проб и проведение инструментального учёта результатов. Обе тест-системы валидированы в соответствии с международными требованиями, предъявляемыми к диагностическим наборам на основе ИФА.

## Результаты и обсуждение

К данным о превалентности болезни, полученным при исследовании проб, доставленных в лабораторию из хозяйств, следует относиться с осторожностью, т.к. очевидно, что убиваемые животные не являются типичными представителями популяции или выбраковываются по хозяйственным (как правило, не известным нам) причинам. Карантинные (или вновь завезённые) животные также не являются репрезентативными представителями поголовья, т.к. находятся вне прямого контакта с популяцией, хотя косвенный контакт всегда присутствует [2].

Учитывая данный факт, для исследования мы использовали полевые образцы материала, полученные в ходе организованного и проведённого совместно с отделами Департамента ветеринарии соответствующих областей, независимого отбора проб. Всего было взято 832 образца проб крови поросят группы доращивания из 28 хозяйств.

При проведении исследований были определены значения LR+ и LR-, т.е. положительное и отрицательное предсказательное значения для тестов (табл. 1).

Показатели положительных предсказательных значений (LR+) для каждого из использовавшихся в нашем исследовании тестов указывают на то, что в случае положительного результата, полученного в одном из тестов, шансы на то, что животное действительно заражено, весьма велики. Показатели отрицательных предсказательных значений (LR-) тестов указывают на то, что в случае отрицательного результата теста шансы того, что животное действительно здорово, также весьма высокие.

Проведённое исследование показало, что доля хозяйств, имеющих свиней, серопозитивных к ЦВС-2, составила 94,6%, а к ПВС – 92,9% хозяйств, что служит индикатором массового инфицирования целевой популяции на стадном уровне (табл. 2).

При исследовании образцов сыворотки крови на наличие антител к ЦВС-2 446 проб (53,6%) оказались положительными, а при исследовании этих же проб на наличие антител к ПВС – 447 (53,7%), что, с учётом базовых характеристик применённых тестов, может служить доказательством значительного распространения возбудителей внутри стад.

При этом серопревалентность к ЦВС-2 в 25% обследованных стад достигала значения 80% и выше, а в 5 стадах (18% стад) не превышала 13%. К ПВС в 25% стад уро-

Таблица 2

**Наличие серопозитивных к ЦВС-2 и ПВС поросят в хозяйствах**

| № | Область | Кол-во проб | Серопревалентность в целевой популяции, (%) | |
|---|---|---|---|---|
| | | | ЦВС-2 | ПВС |
| 1 | Владимирская | 30 | 91 | 100 |
| 2 | | 30 | 80 | 76,6 |
| 3 | | 33 | 42,4 | 84,8 |
| 4 | Воронежская | 30 | 80 | 76,6 |
| 5 | | 30 | 36,6 | 10 |
| 6 | | 30 | 0 | 0 |
| 7 | | 30 | 10 | 20 |
| 8 | | 30 | 50 | 33,3 |
| 9 | | 30 | 6,6 | 30 |
| 10 | Костромская | 35 | 94,3 | 91 |
| 11 | | 30 | 13 | 0 |
| 12 | Белгородская | 30 | 66,6 | 100 |
| 13 | | 24 | 75 | 62,5 |
| 14 | | 30 | 50 | 100 |
| 15 | | 30 | 86,6 | 66,6 |
| 16 | | 30 | 36,6 | 90 |
| 17 | | 30 | 46,6 | 100 |
| 18 | | 30 | 73 | 50 |
| 19 | | 30 | 100 | 66,6 |
| 20 | Московская | 30 | 60 | 23,3 |
| 21 | | 30 | 60 | 66,6 |
| 22 | Смоленская | 30 | 60 | 16 |
| 23 | | 30 | 70 | 40 |
| 24 | | 25 | 84 | 72 |
| 25 | | 30 | 56,6 | 13 |
| 26 | | 25 | 60 | 28 |
| 27 | | 30 | 3 | 26,6 |
| 28 | | 30 | 13 | 50 |
| Всего проб | | 832 | 100 | 100 |
| Из них серопозитивных | | | 53,6 | 53,7 |
| Всего хозяйств | | 28 | 100 | 100 |
| Из них имеющих серопозитивных животных | | | 94,6 | 92,9 |

вень серопревалентности достигал значения 80% и выше, а в 10 стадах (35,7%) не превышал 30%. В двух обследованных стадах (7%) серопозитивных к ПВС поросят выявлено не было.

Среднее количество проб для каждого из хозяйств оставалось стабильно (M±m=29,7±0,39), разброс данных как в числе животных, серопозитивных к ЦВС-2 (M±m=15,92±1,68), так и в числе животных, серопозитивных к ПВС (M±m=15,96±1,9), – достаточно велик. В среднем значение серопревалентности по 28 обследованным хозяйствам составило 53,6% к ЦВС-2 и 53,7% к ПВС. Дисперсионный анализ свидетельствует о крайне высокой вариации числа серопозитивных к ЦВС-2 ($F \gg F_{0.95}$, 63,42 >> 4.02) и к ПВС ($F \gg F_{0.95}$, 48,47 >> 4.02) животных в стадах, и нельзя считать, что циркуляция возбудителей присуща в равной мере всем стадам. Видны существенные различия в числе серопозитивных к ЦВС-2 и ПВС животных для различных обследованных областей Центрального федерального округа. Из четырёх областей (Владимирская, Воронежская, Белгородская и Смоленская, для которых число обследованных стад больше трёх ($n_2>3$)) заметна стабильно-высокая серопревалентность к ЦВС-2 в хозяйствах Владимирской (72,4%) и Белгородской (65,8%) областей. В хозяйствах Воронежской и Смоленской областей её значение ниже (34,6% и 46,5%, соответственно). К ПВС заметна высокая серопревалентность в хозяйствах Владимирской

(84,5%) и Белгородской (70%) областей. В хозяйствах Воронежской и Смоленской областей её значение – на уровне 32,4% и 37,6%, соответственно.

При циркулировании ЦВС-2 в популяции следует подозревать, что заражено не одно животное, а часть популяции [2]. Вероятное значение серопревалентности к ЦВС-2 в целевом поголовье, известное из эпизоотологических параметров инфекции по аналогии с другими популяциями, где ранее проводились исследования [1, 2, 6-8, 10, 15, 18], сопоставимо с полученным нами значением для обследованного свинопоголовья, и находится на уроне 53%. Сообщается также, что риск развития СПМИ у животных в стадах, где ранее обнаруживали ЦВС-2, выше, чем в стадах, где ЦВС-2 появился впервые [8, 19]. Данный факт, по нашему мнению, может указывать на повышенный риск развития СПМИ, как минимум, в 25% обследованных нами хозяйств, для которых значение серопревалентности к ЦВС-2 внутри стада достигало уровня 80% и выше.

Несмотря на отсутствие данных о генетических детерминантах, определяющих вирулентность ЦВС-2, данных о составляющих эффективного иммунного ответа, а также о способах передачи агента от больного животного здоровому, либо между больными животными, ЦВС-2 обнаружен во многих странах мира у поголовья свиней как с клиническими проявлениями СПМИ, так и без проявлений синдрома [1, 6-8, 12, 15]. Во многих случаях СПМИ, от больных свиней, помимо ЦВС-2, выделялся ПВС [1, 18].

Согласно результатам проведённого нами обследования, в стадах имело место присутствие серопозитивных как к ЦВС-2, так и к ПВС животных, но ни в одном из данных хозяйств (92,9% стад) на момент обследования клинических признаков, характерных для СПМИ у поросят отмечено не было. Возможно, что дальнейшие исследования, направленные на выявление других факторов риска появления данного синдрома в стаде, помогут решить проблему СПМИ.

**Выводы**

В свиноводческих хозяйствах Центрального федерального округа Российской Федерации широко распространена циркуляция ЦВС-2, который является этиологическим агентом СПМИ. Одновременно в этих стадах выявлено циркулирование ПВС. На момент исследования клинические признаки, характерные для СПМИ, в обследованных стадах не отмечены. Однако имеются достаточные предпосылки для развития данного синдрома в обследованном поголовье свиней, а риск этого события достаточно велик.

**РЕЗЮМЕ**

**Представлены данные серологического обследования свиней группы доращивания на наличие антител к цирковирусу свиней второго типа и парвовирусу свиней. Определены доля серопозитивных стад и серопревалентность внутри стад целевой популяции к данным вирусам в 28 свиноводческих хозяйствах шести областей Центрального федерального округа Российской Федерации.**

**SUMMARY**

**The results of the serological examination of growing pigs, porcine type 2circovirus- and porcine parvovirus- seropositive animals are presented in the given paper. The proportion of seropositive herds, as well as seroprevalence of the target population herds to these viruses was determined in 28 pig-farming enterprises of 6 oblasts of the Central Federal Okrug of the Russian Federation.**

Литература

1. Дрю, Т. Синдром мультисистемного послеотъёмного истощения, дерматит и синдром нефропатии: роль цирковируса свиней в их этиологии / Т. Дрю // Пробл. инфекц. патологии свиней: Материалы XII Междунар. московского конгр. М., 2005. С. 22-29.
2. Дудников, С. А. Количественная эпизоотология: основы прикладной эпидемиологии и биостатистики / С. А. Дудников. Владимир: Демиург, 2004. 460 с.
3. Инфекционная патология животных: В 2-х т./ под ред. А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьева, Е. А. Непоклонова, Е. С. Воронина. М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. Т.2. 807 с.
4. Использование принципов аналитической эпизоотологии в ветеринарной практике / А. К. Караулов, С. А. Дудников, К. П. Николаева, В. М. Гуленкин.// Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. Владимир, 2005. Т.3. С. 73-84.
5. Орлянкин, Б. Г. Инфекционные респираторные болезни свиней / Б. Г. Орлянкин // Актуальн. пробл. инфекц. патологии и иммунологии животных: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. М., 2006. С. 135-139.
6. Орлянкин, Б. Г. Цирковирусные болезни свиней / Б. Г. Орлянкин // Пром. и плем. свиноводство. 2007. № 2. С. 41-46.
7. Орлянкин Б. Г. Цирковирусные болезни свиней / Б. Г. Орлянкин // Пром. и плем. свиноводство. 2007. № 3. С. 47-49.
8. An exploratory study on risk factors for postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Spain / S. Lopez-Soria, J. Segales, N. Rose [et al] // Prev. Vet. Med. 2005. Vol. 69. P. 97-107.
9. Choi, C. Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephropathy syndrome by double-labeling technique / C. Choi, C. Chae // Vet. Pathol. 2001. Vol. 38, N. 4. P. 436–441.
10. Epidemiologic assessment of porcine circovirus type 2 coinfection with other pathogens in swine / P. M. Dorr, R. B. Baker, G. W. Almond [et al.] // J. Am.

Vet. Med. Assoc. 2007. Vol. 230, N. 2. P. 244-250.
11. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs / J. Kim, Y. Ha, K. Jung [et al.] // Can. J. Vet. Res. 2004. Vol. 68. P. 218-221.
12. Jasbir, S. Porcine circovirus type 2 in Malaysian pigs – recent findings / S. Jasbir, T.G. Nisha, P. Y. Choo // 19th Veterinary Association Malaysia Congress, 3–5 August 2007. P. 109–111.
13. Kim, J. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex / J. Kim, H.-K. Chung, C. Chae // Vet. J. 2003. Vol. 166. P. 251-256.
14. Kim, J. Potentiation of porcine circovirus 2–induced postweaning multisystemic wasting syndrome by porcine parvovirus Is associated with excessive production of tumor necrosis factor-a / J. Kim, Y. Ha, C. Chae // Vet. Pathol. 2006. Vol. 43, N 5. P. 718–725.
15. Larochelle, R. Comparative serologic and virologic study of commercial swine herds with and without postweaning multisystemic wasting syndrome / R. Larochelle, R. Magar, S. D'Allaire // Can. J. Vet. Res. 2003. Vol. 67. P. 114-120.
16. PMWS: experimental model and co-infections/ G. Allan, F. McNeilly, S. Krakowka [et al.] // Vet. Microbiology. 2004. Vol. 98. P. 165–168.
17. Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field / J. Ellis, E. Clark, D. Haines [et al.] // Vet. Microbiology. 2004. Vol. 98. P. 159–163.
18. Postweaning multisystemic wasting syndrome of pigs in Korea: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms / J. Kim, H-K. Chung, T. Jung [et al.] // J. Vet. Med. Sci. 2002. Vol. 64. P. 57-62.
19. Risk factors for porcine post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in 149 French farrow-to-finish herds / N. Rose, G. Larour, G. Le Diguerher [et al.] // Prev. Vet. Med. 2003. Vol. 61. P. 209–225.
20. Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus / S. Krakowka, J. Ellis, B. Meehan [et al.] // Vet. Pathol. 2000. Vol. 37, N 3. P. 254–263.

УДК 619:579.843.95:616-079.4:616-002.4

**М. А. Шибаев**

# РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA* С ПОМОЩЬЮ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ И НУКЛЕОТИДНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

## Введение

Рост числа респираторных заболеваний крупного рогатого скота является острой проблемой во всем мире. Комплекс респираторных заболеваний КРС чаще всего представляет полиэтиологические инфекционные процессы, в которых на разных стадиях развития патологии принимают участие инфекционные агенты как вирусной, так и бактериальной этиологии [1, 2].

*Mannheimia haemolytica* (ранее *Pasteurella haemolytica*) – грамотрицательная бактерия, принадлежащая к порядку *Pasteurellales*, к семейству *Pasteurellaceae*, роду *Mannheimia* [4]. Она является важнейшим этиологическим бактериальным агентом в комплексе респираторных заболеваний КРС, вызывающим развитие манхемиоза (также известный как транспортная лихорадка КРС или пастереллезная пневмония). При этом развивается особая форма инфекционной фибринозно-гнойной альвеолярной бронхопневмонии [3]. Этому в большей степени способствуют факторы патогенности различной природы, такие, как полисахаридная капсула, фимбрии, нейроминидаза и токсины (эндотоксин или липополисахарид и лейкотоксин) [5, 6, 7]. В отсутствие средств антибактериальной терапии данное заболевание может приводить к гибели животного.

Несмотря на разнообразие существующих диагностических методов, проблема идентификации и дифференциации *Mannheimia haemolytica* остается чрезвычайно актуальной. Наиболее широко применяемыми методами лабораторной диагностики для выявления данного микроорганизма являются: метод культивирования на питательных средах и серологические анализы [9, 11, 12]. Однако эти методы не всегда обладают достаточной чувствительностью и специфичностью.

Методы лабораторной диагностики на основе молекулярной биологии, такие, как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и секвенирование амплифицированного участка генома, обладают высокой чувствительностью и специфичностью. Однако ранее разработанные методы на основе ПЦР для выявления *Pasteurella haemolytica* КРС в настоящее время требуют пересмотра методических приемов в соответствии с требованиями современной систематики представителей семейства *Pasteurellaceae* [13].

Целью исследования явилась разработка метода на основе ПЦР и нуклеотидного секвенирования, позволя-